1.- OBJETIVO

Presentar las técnicas utilizadas en el departamento de uroanálisis así como la manera de reportar los resultados obtenidos

2.- ALCANCE

Aplica a toda muestra de orina destinada al área de uroanálisis para su análisis

3.- DESCRIPCIÓN DE LA OPERACIÓN

POLITICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

- No se recibirán muestras que no estén previamente etiquetadas en la recepción ni muestras para la prueba del Examen Toxicológico que no sean entregados por el químico que supervisó la recolección de la muestra previamente etiquetada, marcada con el número de solicitud junto con el formato de la cadena de custodia.
- En caso de que la muestra presente un cultivo deberá ser procesada primero en el departamento de microbiología.
- La muestra a analizar deberá ser la primera de la mañana, con previo aseo y recolectada por chorro medio.
- En el caso de personas que presente incontinencia, la orina deberá permanecer por lo menos 4 horas en la vejiga.
- En el caso de los bebés las muestras pueden obtenerse en bolsas para recolección.
- En caso de muestras de 24 horas deberán ser mantenidas en refrigeración hasta antes del momento de su recepción.
- Se correrá diariamente un control interno para orinas y mensualmente un control externo.
- Las muestras de control interno se procesarán en el equipo urisys 2400 en el rack 230.
- Para el estudio de la muestra el químico deberá portar su bata, utilizar guantes desechables y lentes de seguridad.
- Se llenarán los formatos de mantenimiento y uso diario del equipo utilizado (F-FQUI-LAC-55), la estadística de las pruebas realizadas (F-FQUI-LAC-48) y para el control y preservación de reactivos (F-FQUI-LAC-52) se llenará cada día 15 de mes o día cercano para entregarlo al responsable de seguimiento de este formato.

CRITERIOS DE RECHAZO DE LAS MUESTRAS DE ORINA

- Muestras obtenidas después de una ingesta exagerada de líquidos (ej: preparación para estudio de ultrasonido).
- Muestras conservadas a temperatura ambiente con más de 2 horas de haber sido emitidas.
- En caso de incontinencia se recomienda la segunda orina de la mañana con una ingesta de 200 mL de agua desde la noche anterior
- Muestras visiblemente contaminadas, mal tapadas o sin tapa.
- Muestras con coloraciones debidas a ingesta de medicamentos (por ejemplo fenazopiridina).
- Muestras en las que se observan abundantes núcleos de célula epitelial escamosa "desnudos" o desprovistos de citoplasma, que acompañados por bacterias de morfología bacilar, demuestran una contaminación vaginal de la muestra.
- Las muestras que contengan contaminación fecal (fibras de alimento, pigmentos, etc.) no deben descartarse sin consultar al médico o al usuario por la posibilidad de presentarse una fístula.

ELEMENTOS DE MEDICIÓN

PUNTAS DE PIPETAS DE 1000 uL (AZULES), puntas de pipeta de 1 - 200 uL (amarillas), pipetas KOVA (adiciona 6.6 uL a cada camara KOVA), camara de lectura KOVA (ver inserto de fabricante para medias), Pipetas de transferencia de 1 mL y 3 mL.

EXAMEN GENERAL DE ORINA

MÉTODO TRADICIONAL:

1.- Se anota en el formato de "Uroanálisis" (F-FQUI-LAC-09) el número de orden de la muestra biológica así como el nombre del usuario y su número de ID.
2.- Los tubos de ensayo se marcan con el número de orden de la muestra correspondiente. Si se dispone se puede utilizar una etiqueta con el código de barras (si se va a utilizar el equipo urisys 2400)
3.- Se observan las características físicas de la muestra biológica a estudiar: volumen de la muestra, color y olor.
4.- Se homogeniza la orina, por medio de inversiones y posteriormente se vierte en un tubo de ensayo. Este tubo se utilizará para la lectura del sedimento y para la lectura de la tira reactiva.
5.-. Se realiza el examen de tiras reactivas, sumergiendo la tira reactiva en el tubo (examen visual) o mediante el equipo Urisys 2400 y posteriormente se centrifuga a 1630 rpm (o 400 gravedades) en la centrifuga #3.
6.- Una vez finalizada la centrifugación, se toma un mililitro de la orina y el sobrenadante restante es decantado. En caso de que exista alguna cuantificación para albumina o glucosa el sobrenadante es trasvasado a otro tubo marcado con el numero de la orden.
8.- El sedimento es mezclado con el mililitro de la orina previamente separado, se resuspende y se

toman 50 uL y se coloca entre un portaobjeto y un cubreobjeto. En el formato se reporta el aspecto de la muestra y el sedimento en base a lo que se observa al microscopio.
9.- En caso de que exista alguna cuantificación de los analitos presentes en la orina se procede a su cuantificación utilizando el sobrenadante recolectado previamente, siguiendo los pasos indicados en la sección de cuantificación de analitos.
10.- Se registran los resultados en la hoja de trabajo y posteriormente en el sistema de captura de datos (ver anexo). Al finalizar el trabajo se firman las hojas de trabajo para entregar a la responsable de la recepción.

Resultados.
Las características físicas se anotan de acuerdo a los siguientes datos:
Volumen: puede ser observado y/o medido. En algunos casos los recipientes presentan una escala. Si el frasco no presenta la escala se puede anotar un volumen de la orina aproximado.
Color: el que sea observado, y puede ir desde amarillo pajizo hasta rojo, negro, etc.
Olor: normal; amoniacal y fétido.
Aspecto: se anota como claro, ligeramente turbio, turbio o muy turbio, de acuerdo a lo observado a contraluz.
Sedimento: debe correlacionar con el aspecto observado, es decir si el aspecto es claro o ligeramente turbio, el sedimento será escaso; pero si el aspecto es turbio o muy turbio se reportará como aumentado.

Los resultados obtenidos del análisis con la tira reactiva se anotan de acuerdo a estos valores:
Glucosa:(visual) puede ir desde negativa hasta huellas (menor de 300 mg/dL). En caso de ser mayor o igual de 300 mg/dL se procede a la cuantificación, reportándose el valor obtenido en g/L
(Urisys 2400) Se anota los valores obtenidos en la medición del equipo. En caso de obtener valores de 300 mg/dL se procede a su cuantificación, reportando el valor obtenido en g/L.

Proteínas: (visual). Negativa. Se confirma la presencia de proteínas en orina mediante la prueba del anillo de Heller (ver anexo), en caso de encontrarse valores menores de 500 mg/dL; en estos casos se anota el resultado como "Huellas". Si el valor es mayor de esta cantidad se procede a su cuantificación (ver cuantificación de proteínas en orina) y se reporta en el valor en g/dL.
(Urisys 2400) Se confirma la presencia de proteínas en orina mediante la prueba del anillo de Heller (ver anexo) y se reporta el valor obtenido en el análisis en g/L, hasta antes de 500 mg/dL. En caso de encontrarse ese valor se procede a la cuantificación (ver más adelante) y se reporta su valor en g/L.
En ambos casos
Sales biliares: se reporta como "Negativa" a menos que se presenten positivas las pruebas de bilirrubina y urobilinogeno. Si se presentan positivas, se realiza la verificación con el método de Hay y se anota en el formato F-FQUI-LAC-71

Para la observación microscópica se realiza una lectura en 5 campos y se anotan los elementos observados en el sedimento, siguiendo el orden establecido en el formato de reporte de resultados:
Células epiteliales: pavimentosas, de transición y renales.
Bacterias: pueden ser móviles y/o inmóviles.
Tejido mucoide.Se reportará como escaso , moderado o abundante.

Cristales: dependen del pH urinario y pueden observarse

- Orinas ácidas: de ácido úrico, oxalato de calcio, uratos amorfos, sulfato de calcio, uratos de sodio, etc.
- Orinas alcalinas: fosfato amónico magnésico (fosfato triple), fosfatos amorfos, fosfato de calcio, carbonato de calcio, etc.
- Maclas de cristales de orinas acidas o alcalinas
- Núcleos de lito o calculo.

Para el caso de los cristales de oxalato de calcio, se deberá indicar si es un cristal de oxalato de calcio monohidratado (forma semiesférica con superficie cóncava) o si es dihidratado (forma bipiramidal de base cuadrada visto lateralmente o de apariencia de "sobre de carta" visto de desde arriba).
Cilindros: hialinos, granulosos, de células epiteliales, eritrocitarios, leucocitarios y céreos.
Eritrocitos: Un promedio de las células observadas y señalando el porcentaje de eritrocitos dismórficos (si llegarán a presentarse).
Leucocitos: Un promedio de las células observadas. Se indica si los leucocitos se encuentran como piocitos Si el promedio obtenido de los leucocitos observados se encuentra por debajo del valor observado en la tira reactiva, se adiciona la siguiente nota: "Se observó positividad a esterasas leucocitarias equivalentes a XXX leucos/uL", adicionando el número de leucocitos obtenido en el examen con la tira reactiva.
Para adicionar la nota se utilizará la siguiente escala si:

Visual	sedimento
25 leucos/uL:	> 10 leucos/campo.
75 leucos/uL:	> 15 leucos/campo.
125 leucos/uL:	> 75 leucos/campo.
500 leucos/uL:	>125 leucos/campo.

Otros elementos como.
Levaduras, pseudohifas de levaduras o fragmentos miceliares (posible contaminación)
Cuerpos ovales grasos.
Parásitos: *Trichomonas vaginalis, Entamoeba histolytica*.
Células en Degeneración (Apoptosis, Empeliopolesis, vacuolización, etc)
Adherencia bacteriana o Citólisis Bacteriana.

Para los elementos formes antes mencionados se utiliza una escala que va de escasos (de 0-5 elementos/campo), moderados (6-10 elementos/campo), numerosos (11-15 elementos/campo) y abundantes (más de 15 elementos/campo) para los elementos antes mencionados, a excepción de los eritrocitos y leucocitos con los cuales se realiza un promedio del número de las células observado en los campos revisados y se reporta como cel/uL.

MÉTODO KOVA:

El método Kova es un método estandarizado para la lectura de sedimento el cual utiliza sus propios tubos de 12 mL, una pipeta y una cámara para la lectura del sedimento. Por lo tanto solamente se

describen los pasos para el examen del sedimento ya que el análisis de las características físicas y químicas de la orina sigue realizándose igual al descrito en el método tradicional.

1.- Se inicia el procesamiento de la muestra de orina siguiendo los 4 primeros pasos del método tradicional, solamente que se utiliza un tubo Kova en lugar de uno de los tubos tradicionales de vidrio.
2.- Se llenan los tubos Kova con 12 mL de orina (en caso que la muestra sea menor se puede utilizar 6 mL o 1mL) y posteriormente se tapan.
3.- Los tubos se centrifugan a 400 gravedades (g) por 5 min.
4- Se destapan los tubos y se les inserta una pipeta Kova en el tubo procurando que llegue al final del tubo. Girar la pipeta para asegurar.
5- Decantar 11 mL del sobrenadante del tubo Kova y luego remover la pipeta.
6- Para facilitar la observación, se puede adicionar 2 gotas del colorante Sternheimer-Malbin (SM) y homogenizar. Dejar reposar por un tiempo (aprox. 5 min) para permitir que las estructuras se tiñan adecuadamente.
7- Con la pipeta Kova transfiera una gota a la cámara de lectura adicionando la gota en la esquina del pocillo y permitiendo que difunda por capilaridad.
8- Coloque el portaobjeto en el microscopio bajo el objetivo y realice la lectura a 10x y 40x.
9- Se realiza la lectura del sedimento tomando en cuenta las siguientes consideraciones:
Sedimento disminuido (escaso): se leen 10 retículos de los cuadros sombreados en la figura 1.
Sedimento aumentado: se leen 5 retículos de los cuadros sombreados en la figura 1 (de preferencia el retículo central)

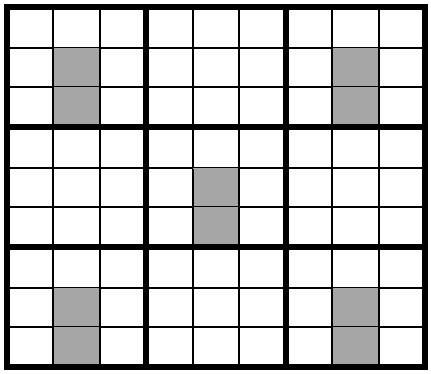

Fig. 1. Cámara Kova indicando en gris oscuro los retículos en los cuales se realiza la lectura.

Se realiza el conteo de las estructuras:
Células epiteliales (pavimentosas, de transición y renales), leucocitos y eritrocitos.
Las otras estructuras presentes en el sedimento se reportan como previamente se ha comentado.
En caso de existir una gran leucocituria o hematuria se puede realizar el conteo en un único retículo y luego multiplicar por 10 para obtener el número total de células.
Si llegará a presentarse una muestra con más de 60 estructuras por retículo (de cualquier tipo que se realice el conteo), se puede omitir y mencionar que se presenta como "INCONTABLES".
10- Con el conteo total de las estructuras (apuntando las lecturas realizadas en cada uno de los 5

reticulos de lectura) se realiza la conversión con la tabla proporcionada por el fabricante. Si no llegará a presentarse el dato para la conversión, se utiliza la siguiente formula:
"Promedio de células contadas x 7.5" donde el promedio se obtiene al dividir el total de células por el número de retículos contados.
11- Se reporta en la hoja de trabajo "Uroanálisis" (F-QUI-LAC-09) siguiendo el orden previamente establecido en el método manual para la lectura del sedimento y posteriormente se registra en el sistema de captura. Se reportan números enteros y en caso de que se presenten decimales se redondeará al número entero superior, si se obtiene un valor de 5; o al inferior si se presenta un valor menor o igual de 4.
Para el caso de los leucocitos, si el valor observado se encuentra por debajo del observado en la tira reactiva se adiciona la siguiente nota "Se observó positividad a esterasas leucocitarias equivalentes a XXX leucos/uL" adicionando el valor obtenido en la tira reactiva. Para adicionar la nota se utilizará la siguiente escala si:
Lectura visual: igual a la mencionada anteriormente.

Urisys 2400	sedimento
25 leucos/uL:	< 10 leucos/uL
100 leucos/uL:	< 25 leucos/uL
500 leucos/uL:	< 100 leucos/uL

12.- Se captura en el sistema de registro de datos y se firman las hojas de trabajo para entregar a la responsable de recepción.

Si el sedimento presenta elementos que pueden imposibilitar la observación se procede de acuerdo al elemento que impide la visualización:
Cristales de orinas ácidas: los cristales que mayormente se observan son los de uratos amorfos. Se pueden disolver mediante calentamiento a 60°C en mechero o mediante la agregación de álcalis al sedimento (NaOH o KOH a cualquier concentración).
Cristales de orinas alcalinas: Los fosfatos amorfos son los cristales que dificultan la observación y se pueden disolver agregando ácido acético en cualquier concentración al sedimento.
Eritrocitos o Leucocitos: Se utiliza lisante de estas células para su ruptura (leucocitos) o acido acético al 2% (eritrocitos).
Tejido mucoide: Se puede utilizar ácido acético para disolverlo.
Otros elementos (células o bacterias): se adiciona 0.5 mL sobrenadante de la orina para diluirla.

Actualmente se puede realizar captura de los resultados de manera manual o utilizando la interface del software Sconnect y el programa de registro Syslabs.

Para realizar la transferencia de datos del equipo Urisys 2400 a través del software sconect y syslabs se realizan los siguientes pasos:

1.- Al tubo (Kova o de vidrio) se pega una etiqueta con código de barras procurando que se coloque de manera que el código de barras quede a la altura del código de barras que tienen los racks del equipo.
2.- Se puede comprobar la lectura del código de barras (siguiendo la ruta menú-herramientas-comb código de barras). Para realizar esto el equipo debe estar en "**standby**". En caso de que no se reconozcan las etiquetas se introduce el ID de la muestra de forma manual.

3.- En el equipo de cómputo del área se inicia el programa Sconect. Una vez abierto (luego de poner la contraseña) se localiza el botón del equipo Urisys 2400 y se le da conectar.
4.- En el equipo urisys 2400 se verifica que en la pantalla principal aparezca la frase "**On line**". De lo contrario se activa (mediante el botón "condiciones de inicio" y luego en el botón "host").
5.- Se presiona el botón "Iniciar "en la pantalla principal del equipo urisys 2400. El software del equipo hace la transferencia hacia el programa Syslabs luego de haber terminado el procesamiento de las muestras y haber presionado el botón "Transferir Urisys"
6.- Para la captura final, se realizan los cambios en los campos pertinentes (color, aspecto, glucosa y proteínas) y se completa la captura los campos faltantes (ejemplo sedimento urinario). En cada campo existe un submenú que contiene las opciones de captura de los datos, que se puede abrir presionando la tecla F1.
7.- Una vez finalizada la captura de los datos en el Syslabs, y posteriormente a una revisión, se libera el resultado marcando la casilla "verificado" ubicado en el extremo superior derecho de la pantalla del programa de captura

En caso de que no realice la transferencia debido a que no se detecto el código de barras de la muestra o que no haya disponible las etiquetas con los códigos se procede a realizar la captura del ID de la muestra en el equipo Urisys siguiendo estos pasos:

1.- En el programa del Syslabs se verifica los datos del paciente (Nombre, ID y numero de la orden de trabajo) y en el urisys (posición de la muestra en el rack y numero de secuencia). Se recomienda apuntar los números de secuencia del urisys en las hojas de trabajo del área.
2.- Se presiona el botón de "Parar" en la pantalla principal del Urisys y luego se confirma (en la ventana mediante el botón "aceptar") para poner el equipo en "**Standby**".
3.- Se Localiza el submenú de monitor de datos (Menu-monitor de datos) y se presiona el botón de datos de rutina.
4.- Utilizando los botones "Prev" o "Post" se localiza el numero de secuencia de la muestra que no tenga ID y se presiona el botón de "ID" o se puede presionar el botón de Num de sec para localizar directamente las muestras a las que no se les reconoció el ID.
5.- Utilizando el teclado alfanumérico se introduce el ID de la muestra, se presiona"↵" y se confirma mediante el botón "aceptar" que aparece en una subventana.
6.- Se procede de la misma manera con todas las muestras a las cuales no se haya detectado el ID.
7.- Una vez finalizado la captura de ID, en la pantalla de monitor de datos de rutina se localiza el botón de "proceso".
8.- Se introducen los números de secuencia inicial y final de las muestras que se desean transmitir (utilizando el teclado numérico) y se presiona el botón "Enviar", aparece una ventana y se confirma el envío mediante el botón "Aceptar".
NOTA: Para poder realizar esta transferencia, el equipo Urisys debe tener activado el Host y en la computadora del área debe estar en funcionamiento el programa Sconect.

RECUENTO DE ADDIS

Introducción

El recuento de Addis es un método para la investigación cuantitativa de elementos celulares. El día anterior a la prueba, el paciente debe restringir la ingesta de líquidos para obtener una orina concentrada. Asimismo, la dieta debe ser acidificante, basada en proteínas e hidratos de carbono. Este régimen se instituye para lograr una orina concentrada y ácida, condiciones ideales para asegurar la preservación de los elementos celulares de la orina. Los recuentos pueden ser en muestras de orina 3, 6, 12 o 24 horas.

Procedimiento.

Se mide el volumen exacto de orina y se mezcla con cuidado por inversión para homogenizarla. En un tubo KOVA se colocan 10 mL de orina y se centrifuga 5 min a 2000 rpm (500 gravedades (g)). Después de la centrifugación se adiciona una pipeta KOVA y se separa el sobrenadante, reteniendo 1 mL de orina residual. Se resuspende con cuidado y se carga en una cámara de lectura KOVA. El conteo se realiza de la misma manera que el señalado anteriormente para el Examen General de Orina, pero al momento de realizar la conversión, se utiliza un factor de **9**.

Resultados.
Para poder reportar los resultados se necesario haber realizado la conversión por medio del factor antes mencionado y utilizando la formula siguiente:
N = elementos contados X volumen/minuto x 1000 para el caso de los eritrocitos y leucocitos.
N = elementos contados X volumen/minuto x 250 para el caso de los cilindros.
Donde los elementos contados son los obtenidos de la conversión del conteo urinario y el volumen/minuto es el que se obtiene de dividir el volumen de orina medido entre el volumen de orina esperado (1440 mL).

CUANTIFICACIÓN DE ANALITOS EN ORINA

Introducción

La orina es una solución acuosa, compleja, de sustancias orgánicas o inorgánicas, de las cuales la mayor parte son productos del desecho del metabolismo celular. Las cantidades de sustancias varían de modo considerable, en efecto, la variabilidad de la composición urinaria es la que ayuda a mantener el resto de los líquidos corporales en un estado de equilibrio denominado homeostasis.
La glucosa, los aminoácidos y otras sustancias no filtrados se reabsorben en los túbulos proximales, dejando la urea, el ácido úrico, los fosfatos y otras sustancias en el filtrado.

GLUCOSA EN ORINA (CUANTITATIVA)

Introducción
La presencia de cantidades significativas de glucosa en la orina se denomina glucosuria (o glicosuria). La cantidad de glucosa que aparece en la orina depende del nivel de glucemia, de la velocidad de filtración glomerular y del grado de reabsorción tubular. Por lo general no existe glucosa en la orina hasta que el nivel de glucosa en la sangre supere los 160 – 180 mg/dL, cifra que es el umbral renal normal para la glucosa. Cuando el valor de la glucemia supera el umbral renal, los túbulos no pueden reabsorber la glucosa filtrada, y se produce glucosuria.

Su cuantificación se realiza cuando en el examen general de orina (EGO) o en una curva de tolerancia a la glucosa, se observa un resultado en el área de la tira reactiva mayor o igual a 300 mg/dL. Los resultados obtenidos por debajo de este valor son considerados para su reporte como "HUELLAS".

Método
Actualmente el equipo cobas integra realiza la dilución de la orina, por lo que solamente se le proporciona al departamento de bioquímica clínica el sobrenadante obtenido del Examen General de Orina.

Resultados
El resultado obtenido de la cuantificación se divide entre 100 para la conversión de mg/dL a g/L y se registra en el formato F-FQUI-LAC-09 y en el sistema de captura.
Cuando se trata de curvas de tolerancia a la glucosa se anota el resultado de las mediciones en el formato F-FQUI-LAC-09 y se indica el tiempo en que se realizo la medición.

CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS EN ORINA Y PROTEÍNAS EN ORINA DE 24 HORAS

La cuantificación se realiza cuando en el EGO o en la cuantificación de proteínas de 24 horas se observa un resultado de > 500 mg/dL (en el Urisys 2400).
En caso de que en la prueba de proteínas de 24 horas no se presente un resultado de < 300 mg/dL o < 500 mg/dL, se realiza la prueba como una microalbuminuria.
En caso de resultados < de 500 mg/dL (Urisys 2400) se procede a la confirmación de la presencia de las proteínas mediante la técnica del anillo de Heller.

Introducción
La orina normal contiene una pequeña cantidad de proteína, aunque el glomérulo normal bloquea la mayor parte del paso de la albúmina y de las proteínas plasmáticas más grandes. Muy frecuentemente, un aumento de 150 mg diarios en la proteinuria refleja un filtrado glomerular de proteína aumentado y producido por daño glomerular de cualquier naturaleza.
El grado de proteinuria varía con el tipo de enfermedad renal y con el grado de seriedad del proceso morboso. La medición de la cantidad de proteína puede se útil en el diagnóstico y en el curso ulterior de la enfermedad.

Método (Exton):
Se basa en la precipitación de las proteínas por la acción del ácido sulfosalicílico y la comparación turbidimétrica con soluciones testigo de albúmina.
Se realiza una dilución 1:2 con 1 mL de la orina centrifugada y 1 mL de agua destilada.
Luego se prosigue como lo demuestra el siguiente esquema:

	Estándar albúmina	**Blanco de muestra**	**Muestra**
Orina	--	1 mL	1 mL
Agua destilada	5.5 mL	11.5 mL	9.0 mL
Proteína Exton	2.5 mL	--	2.5 mL
Estándar de albúmina	4.5 mL	--	--

Se homogeniza y se deja reposar 7 min a resguardo de la luz.
Posteriormente se realiza la medición del estándar de albúmina contra un blanco de agua y de la muestra biológica contra el blanco de la muestra a 405 nm.
Se realizan los cálculos de acuerdo con esta formula:

(D.O muestra/ D.O estándar) x 0.9 g/dL x 2

NOTA: en caso que la medición se realice en 24 horas es necesario medir el volumen exacto de la orina.

Resultados
Proteinuria de 24 Horas.
Se toma el valor obtenido de la albúmina y con el volumen de la orina de 24 horas se lleva el resultado al valor de las 24 horas.
Los resultados se anotan en el formato F-QUI-LAC-36 se indica el volumen urinario medido.
En caso de realizar la medición con las tiras de microalbuminuria, se toma el valor de la albumina y es llevado al valor de las 24 horas y se anota el resultado en el formato F-QUI-LAC-36.

Método de proteínas totales (rojo de pirogalol)

Se realiza siguiendo las indicaciones del inserto del equipo comercial utilizado (ver hojas anexas).
Se reporta en el formato F-QUI-LAC36.

Método mediante tira reactiva:
Se puede realizar también la medición de proteinuria mediante el empleo de las tiras de microalbuminuria y el valor obtenido es multiplicado por el volumen de la orina de 24 horas.

MICROALBUMINURIA.

Esta prueba se realiza cuando se solicita la prueba de microalbuminuria o cuando en la cuantificación de proteinuria de 24 Horas se obtengan valores de huellas o negativo.

Método
Se sigue de acuerdo a lo indicado en el instructivo de las tiras de medición utilizadas (ver hojas anexas).

Resultados
Se anotan los valores obtenidos en la prueba en Proteínas de 24 horas/microalbuminuria (formato F-FQUI-LAC-36), anotando los valores obtenidos de la albumina, creatinina y la relación alb/crea (si así se cuantificó).

CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO Y UREA.
Se toma una alícuota de la orina centrifugada para su cuantificación y se lleva al departamento de Bioquímica clínica para su cuantificación y reporte.
NOTA: en caso de que orina sea de 24 horas se mide el volumen total de la orina.

DEPURACIÓN DE CREATININA EN ORINA DE 24 HORAS.
Se mide el volumen total de la orina (en mL), se toma una alícuota de la orina y se lleva al departamento de Bioquimica clínica para su cuantificación y reporte.

OTRAS CUANTIFICACIONES.

En el caso de cuantificaciones de otros analitos en orina, revisar el instructivo de la prueba y realizar la dilución indicada (si se requiere) y midiendo el volumen de la muestra (si se requiere).
En caso de ser una prueba subrogada, se sella la orina con papel parafilm y se anota el volumen enviado de orina y la prueba a realizar.
En caso de que la muestra requiera conservadores, estos se adicionan antes de iniciar la recolección, por lo que el usuario deberá acudir al laboratorio para obtenerlos y posteriormente iniciar la recolección.

PRUEBA INMUNOLÓGICA DE EMBARAZO EN ORINA (PIE EN ORINA).

Método:
De acuerdo a lo establecido en el instructivo de la prueba de embarazo utilizada (ver hojas anexas) donde se sumergirá la tira reactiva en el muestra de orina y se verificará el resultado en un intervalo de tiempo (aproximadamente 5 min).

Resultados

Los resultados de la prueba se anotan en el formato F-FQUI-LAC-09. Se indica si la prueba es positiva

(2 líneas en la tira) o si es negativa (1 línea) de acuerdo a lo indicado en el inserto del kit comercial.

PROTEÍNA DE BENCE-JONES

Introducción

La proteína de Bence-Jones está formada por dímeros de cadenas livianas, sea kappa o lambda, procedentes de inmunoglobulinas. Esta proteína fue reconocida por primera vez por Henry Bence-Jones en 1847 debido a sus propiedades inusuales de solubilidad: precipita al calentar a 40-60 ºC pero se solubiliza nuevamente cuando se calienta hasta ebullición.

El mieloma multiple, es la enfermedad que se asocia más a menudo con la presencia de proteína de Bence-Jones, pero no es específica, se puede encontrar en casos de linfoma, macroglobulinemia, leucemia, sarcoma osteogénico, amiloidosis y en otras enfermedades malignas.

Método (precipitación con calor)

1.- Se coloca 5 mL de orina centrifugada en un tubo de ensayo y se acidifica hasta un pH de 5.5 o 5 con ácido acético al 10%.

2.- Calentar durante 15 min en baño María a 56ºC o en baño seco. Si se forma un precipitado, es indicativo de proteína de Bence-Jones.

3.- Si ocurre precipitación, colocar el tubo en agua hirviendo durante 3 minutos. Si el precipitado disminuye, se debe a la presencia de proteína de Bence-Jones, mientras que si aumenta se debe a que hay otras proteínas.

4.- Si se produce un aumento de la precipitación a 100ºC, filtrar la orina estando caliente para eliminar proteínas que puedan interferir. La proteína de Bence-Jones se encontrará en solución a esa temperatura y, en consecuencia, permanecerá en el filtrado.

5.- Al enfriarse la orina, el precipitado correspondiente a la proteína de Bence-Jones reaparecerá en el filtrado a aproximadamente 60ºC y se disolverá nuevamente por debajo de 40ºC.

6.- El resultado se anotará en el formato “Uroanalisis” (F-FQUI-LAC-09) como positivo o negativo según lo observado.

PRUEBA PARA EXAMEN TOXICOLÓGICO (ANTIDOPING)

Introducción

Existe, actualmente, la posibilidad de determinar un gran número de fármacos y drogas de abuso de manera rápida y sencilla. El objetivo es determinar la presencia o ausencia de drogas de abuso y, únicamente en algunas situaciones particulares, su cuantificación El tipo de muestra que se utiliza con mayor frecuencia para la identificación del consumo de drogas de abuso es la **orina**.

Procedimiento

Esta prueba es una prueba de screening rápida que utiliza anticuerpos monoclonales para la detección selectiva de niveles elevados de ciertos metabolitos de drogas.

Para la realización de esta prueba debe seguir lo establecido en la cadena de custodia del laboratorio, donde debe observar de manera visual la recolección de la orina y una vez finalizada la recolección, se identifica la muestra con los datos del usuario y se solicita la firma en el formato de Examen Toxicológico (F-FQUI-LAC-95) por parte del usuario si sus datos son correctos. Este formato debe entregarse a los Químicos asignados al área en caso de que no sean ellos los testigos de la recolección.

Esta prueba se realiza de acuerdo con lo establecido en el inserto de la prueba, en el cual se describe que el usuario debe orinar directamente en el frasco contenedor de la prueba (o en otro frasco estéril, marcando este último con los datos de usuario) con un mínimo de 30 mL y un máximo de 70 mL, y posteriormente asegurando la tapa del frasco. El frasco contenedor o el cassette contienen las tiras para la medición de los metabolitos de las drogas. Se debe indicar en el F-FQUI-LAC-95 los mensurandos que se van a analizar.

En caso de que la recolección de la muestra de orina se realice en otro frasco estéril, se adicionan de 30 a 40 mL de orina al frasco contenedor de la prueba (si se presenta de esta manera).

Después que la muestra de orina sea recolectada y/o puesta en el envase recolector, se leen los resultados a los 5 minutos. No se interpretan los resultados después de 10 minutos.

Los resultados de la prueba se interpretan como:

Negativo: Aparición de dos líneas, una en la región del control (C) y otra línea adyacente en la región de la prueba (T).

NOTA: La intensidad de la línea de control puede variar, pero debe considerarse negativa mientras se observé una línea distinguible de color.

Positivo: Una línea aparece en la región de control. No se observa ninguna línea en la región de la prueba. Este resultado positivo indica que la concentración del analito está por encima de nivel detectable.

Invalido: La línea de control no se observa. Un volumen insuficiente de muestra o un incorrecto procedimiento son las razones más comunes para la falla de la línea control. Revise el procedimiento y repita la prueba utilizando un nuevo frasco recolector.

Reporte de resultados

Los resultados se reportan en el formato F-FQUI-LAC-95 (Formato para examen toxicológico) previamente llenado con los datos generales del usuario, especificando cada uno de los mensurandos que se determinan en esta prueba (COC, AMP, MET, THC, OPI, BZO, etc) como “Positivo” o “Negativo”. Una vez finalizado el estudio, se debe firmar el formato por el Químico que realizó la

prueba.
En caso de que una muestra sea encontrada como "Positiva" deberá informar al responsable sanitario y conservar la muestra en refrigeración (2-8°C) o en congelación (-20°C) en caso de que el usuario decida realizar otra prueba.
En caso de que una muestra resulte "positiva" y el usuario se encuentre bajo tratamiento con algún medicamento controlado se le puede adicionar la siguiente nota, previa comprobación que algún médico lo haya recetado:
"NOTA: El usuario se encuentra bajo medicación con el medicamento (nombre del medicamento) cuyo principio activo es (nombre del principio activo)."

ANEXOS DE PRUEBAS RÁPIDAS Y PREPARACIÓN DE REACTIVOS

PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE EXTON

Reactivo de Exton

Ácido sulfosalicílico	50 g
Sulfato de sodio cristalizado	10 g
Agua destilada c.s.p	1000 mL

Filtrar.

Este reactivo es estable durante 1 año si se mantiene en refrigeración o hasta que aparezca un precipitado color blanco.
Se conserva en un frasco color ámbar, rotulándose con el nombre del reactivo, su fecha de preparación y fecha de caducidad.

SOLUCIÓN TESTIGO DE ALBUMINA.

0.1 mL de solución de albúmina bovina al 30% en agua destilada, se lleva a 100 mL con agua destilada en matraz aforado. Cada mL corresponde a 0.0003 gramos de albúmina.

Este reactivo es estable por 6 meses si se mantiene en refrigeración o hasta que aparezca un precipitado color blanco.
Se puede conservar en un frasco transparente, el cual se rotula con el nombre del reactivo, su fecha de preparación y fecha de caducidad.

PREPARACIÓN DEL COLORANTE DE STERNHEINER-MALBIN (SM).

Colorante			
Solución 1		Solución 2	
Cristal violeta	3 g	Safranina O	0.25 g
Alcohol de 95°	20 mL	Alcohol de 95°	10 mL
Oxalato de amonio	0.8 g	Agua destilada	100 mL
Agua destilada	80 mL		

Se mezclan 3 partes de la solución 1 con 97 partes de solución 2 y se filtra.

El colorante es estable durante 1 año. En caso de observarse un precipitado, se puede filtrar para utilizarse nuevamente. Mantener en frasco color ámbar o transparente, rotulándolo con el nombre del colorante, su fecha de preparación y fecha de caducidad.

Si el colorante se adquiere de manera comercial, rotulará el frasco utilizado con el nombre del colorante y la fecha de caducidad señalado por el fabricante.

Método de para la tinción SM

Centrifugar la orina 5 min a 1630 rpm (400 gravedades). Decantar el sobrenadante y dejar aproximadamente 1 mL. Resuspender el sedimento y agregar 2 gotas del colorante. Examinar a microscopio óptico con portaobjetos y cubreobjetos.

METODO DE HAY PARA SALES BILIARES

Se refrigera la orina durante 10 min para alcanzar la temperatura de 18°C. En el tubo de ensayo se espolvorea una pequeña cantidad de azufre pulverizado (o resublimado) y se observa su comportamiento.
En caso de observarse precipitación en los 30 seg posteriores se reporta como “Positivas” o en “Negativas” si no se observa precipitación alguna.

METODO DEL ANILLO DE HELLER

Se coloca uno o dos mL de ácido nítrico concentrado en el fondo de un tubo de ensayo. Cubrir el ácido con orina centrifugada, pero cuidando que esta se deslice lentamente por la pared del tubo; de este modo se forman dos capas de líquido. La formación de un precipitado blanco en la unión de ambos líquidos al cabo de tres minutos indica la presencia proteína.

ELIMINACIÓN DE MUESTRAS DE ORINA

Para poder desechar las muestras de orina, una vez que haya finalizado su estudio, se transportarán al área de lavado y se eliminarán mediante la utilización de una solución de hipoclorito de sodio

comercial, se dejarán reposar 2 minutos y posteriormente el contenido se desechará en la tarja y el frasco en el bote de basura municipal (bolsa negra).
En caso de que se consideren procedente de pacientes con alguna enfermedad infectocontagiosa, se depositarán en bolsa de color rojo (RPBI).

4.- DOCUMENTOS DE REFERENCIA

Código	Nombre del documento	Lugar de almacenamiento
MGC-DGPLANEI-CC-01	Manual de Gestión de la Calidad	Sitio web del SGC
N/A	NOM-007-SSA3-2011 Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos	En línea y LACSC
N/A	NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 Protección ambiental- Salud ambiental – Residuos Peligrosos biológico-infecciosos – Clasificación y especificaciones de manejo	En línea
N/A	Guía para el cumplimiento de la Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002	En línea
P-FQUI-LAC-04	Procedimiento para el análisis de muestra	LACSC y en línea
N/A	Urisys 2400 Manual del usuario	Área de trabajo
N/A	Guía practica para la estandarización del procesamiento y examen de las muestras de orina	En línea
N/A	Inserto: Sistema Kova para el análisis de orina estandarizado.	LACSC y en línea
N/A	El laboratorio en la clínica. Ióvine, Enrique; Selva, Alejandro. Médica Panamericana. 1979	LACSC.

5.- CONTROL DE REGISTROS

Identificación	Nombre del registro	Lugar de almacenamiento	Responsable de su protección	Tiempo de retención	Disposición de los registros
F-FQUI-LAC-09	Uroanálisis	Área de Trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-24	Registro de temperatura del refrigerador	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-36	Proteínas en orina/ microalbuminuria	Área de Trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-48	Hoja estadística de estudios	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-52	Control y Preservación de reactivos	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-55	Bitácora de uso diario de Urisys 2400	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-71	Reporte Urisys 2400	Área de Trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-95	Formato para Examen Toxicológico	Área de Trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto

6.- GLOSARIO

6.1 .- SIGLAS
UADY. Universidad Autónoma de Yucatán.
LACSC. Laboratorio de Análisis Clínicos de Servicio a la Comunidad.
g. Fuerza Centrifuga Relativa tambien llamada Gravedades.
rpm Revoluciones por minuto

6.2 .- DEFINICIONES

Muestra biológica. Parte anatómica o fracción órganos o tejido, excresiones o secresiones obtenidas de un ser humano o animal vivo o muerto para su análisis.

7.- CONTROL DE REVISIONES

Nivel de revisión	Sección y/o página	Descripción de la modificación y mejora	Fecha de modificación
01	Página 4 Página 5	Se describió el proceso de control de calidad en el área de uroanálisis Se modificó el apartado de examen general de orina para incluir los resultados obtenidos por el equipo Urisys 2400 y el método Kova.	10 de Junio de 2009
02	Página 8 Página 10	Se modificó el reporte del sedimento urinario en el examen general de orina Se modificó la cuantificación de analítos (glucosa, ácido úrico, urea y depuración de la creatinina)	13 de octubre de 2009
03	Página 2 Página 3 Páginas 8 y 10 Páginas 11, 12 y 13 Página 13 Página 16	Se modificó la última política. Se modificó el diagrama del proceso. Se modificó el reporte de sedimento urinario referente a los leucocitos. Se eliminó los métodos de cuantificación de analitos que describían las diluciones utilizadas. Se adicionó el método de la proteína de Bence-Jones Se adicionó el método del anillo de Heller.	20 de Abril de 2010
04	Página 4 Paginas 7, 8 y 10	Se eliminó el prefacio y se modificó la descripción del control de calidad interno Se modificó la descripción del Examen general de orina y se adicionó la descripción del uso de la interface urisys-syslabs.	18 de marzo de 2011
05	Pagina 2 Pagina 15	Se adicionó una política Se adicionó la descripción de las pruebas de drogas de abuso	24 de junio de 2011
06	Sección 3 Todo el documento	Se modificó la descripción del EGO Cambio de la figura 1 Adición del método de tira reactiva para albumina Se modificó el formato del documento	4 de noviembre de 2012

07	Sección 3	Se modificó la descripción del EGO Se modificó el nombre del responsable sanitario	9 de julio de 2013
08	Sección 3 Sección 5 Sección 7	Se modificó la descripción del examen toxicológico. Se adicionó el F-FQUI-LAC80 Cambio de director de la Facultad de Química	14 de agosto de 2013
09	Sección 3 Sección 7	Se modificaron las políticas y la descripción del examen general de orina Se modificó el nombre del responsable sanitario	12 de noviembre de 2013
10	Sección 3 Sección 5	Se realizaron modificaciones a la descripción de las pruebas realizadas en el área. Se adicionó el F-FQUI-LAC-52	22 de agosto de 2014
11	Sección 3 Sección 4 Todo el documento	Se adicionaron los criterios de rechazo de las muestras Se adicionaron los elementos de medición utilizados en el laboratorio. Se menciona el uso de rpm para la centrifugación Se anexó la manera en la cual se rotulan los reactivos y soluciones preparadas. Se adicionó la prueba del Recuento de Addis. Se adicionó la manera en la cual se desechan las muestras de orina Se adicionaron documentos de referencia Revisión ortográfica a todo el texto. Cambio al nuevo formato de la DGPLANEI	25 de Marzo de 2015
12	Todo el documento Sección 7	Revisión ortográfica Se modificó el nombre del responsable sanitario	7 de septiembre de 2015

Nota: Ésta sección será utilizada a partir de la primera modificación a este documento. La revisión 00, se mantendrá en blanco.

Elaboró	Revisó	Aprobó
QFB Giovanni J. Xool Castellanos *Responsable del área de Uroanálisis y Coproanálisis)*	*EBC. Ricardo Jesus May Castillo* *Responsable sanitário*	*Dra. Zulema Osiris Cantillo Ciau* *Directora de la Facultad de Química*

Las firmas avalan la responsabilidad de las personas que: elaboran el documento, revisan su adecuación y aprueban para su implementación dentro del Sistema de Gestión de la Universidad Autónoma de Yucatán.